

**POLYLACTIC ACID PARTICLES CONTAINING PHYSIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCE AND ITS PRODUCTION**

**Publication number:** JP1216918 (A)

**Publication date:** 1989-08-30

**Inventor(s):** GEN JIYOUKIYUU; IKADA YOSHITO +

**Applicant(s):** BIO MATERIAL UNIVERS KK +

**Classification:**


- International: **A61K9/58; A61K9/16; A61K9/51; A61K9/52; A61K47/00; A61K47/34; A61K9/18; A61K9/51; A61K9/52; A61K47/00; A61K47/34; (IPC1-7): A61K9/58; A61K47/00**


- European: **A61K9/16H6D4; A61K9/51**


**Application number:** JP19880042459 19880224


**Priority number(s):** JP19880042459 19880224


**Also published as:**

 JP2670680 (B2)

 EP0330180 (A1)

 EP0330180 (B1)

 EP0330180 (B2)

 US5100669 (A)

more >>

**Abstract of JP 1216918 (A)**

**PURPOSE:** To obtain the subject fine particles which can control the initial burst, keep gradual release for a long time, to increase the intake of medicine, by allowing a polylactic acid polymer to including a water-soluble physiologically active substance stable without deterioration of the activity.

**CONSTITUTION:** A water-soluble, physiologically active substance and polylactic acid are dissolved in a mixture of an organic solvent of hydrophilic property such as acetonitrile or acetone and water or an organic acid such as acetic or formic acid and the solution is converted into O/O or W/O emulsion in a poor solvent immiscible with the solvent mixture or the organic acid.; The emulsion is dried in liquid to give the subject preparation of polylactic acid fine particles containing a physiologically active substance and having an average particle size of 0.01-300m, where the elution of the physiologically active substance is controlled less than 30% based on the content in the particles, after 24 hours, when the particles are placed in a phosphate buffer solution of 7.4pH at 37 deg.C.

Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平1-216918

⑬ Int. Cl.<sup>4</sup>

A 61 K 9/58  
47/00

識別記号

3 3 4

庁内整理番号

H-7417-4C  
C-7417-4C

⑭ 公開 平成1年(1989)8月30日

審査請求 未請求 請求項の数 7 (全9頁)

⑮ 発明の名称 生理活性物質含有ポリ乳酸系微小球およびその製造法

⑯ 特 願 昭63-42459

⑰ 出 願 昭63(1988)2月24日

⑱ 発 明 者 玄 丞 休 京都府宇治市小倉町天王24番8号

⑲ 発 明 者 筏 義 人 京都府宇治市五ヶ庄広岡谷2-182

⑳ 出 願 人 株式会社バイオマテリ 京都府京都市南区東九条南松ノ木町43番地の1  
アル・ユニバース

明 細 書

1. 発明の名称

生理活性物質含有ポリ乳酸系微小球およびその製造法

2. 特許請求の範囲

1) 水溶性の生理活性物質を含有するポリ乳酸系微小球からなり、37℃、PH7.4、リン酸緩衝液中の *in vitro* 溶出試験において、24時間後の生理活性物質の溶出量がポリ乳酸系微小球中の生理活性物質の含有量に対して30%以下に制御された平均粒子径約0.01μm～300μmのポリ乳酸系微小球。

2) 水溶性の生理活性物質がポリペプチドまたは蛋白質系薬物、抗菌性薬物、抗腫瘍性薬物、解熱消炎鎮痛剤、鎮咳去たん剤、抗うつ剤、筋弛緩剤、抗痙攣剤、抗アレルギー剤、降圧利尿剤、糖尿病治療剤、強心剤、血管拡張剤、不整脈治療剤、抗凝血剤、止血剤、麻酔拮抗剤、抗結核剤、ホルモン剤、免疫賦活

剤、抗てんかん剤、抗ヒスタミン剤、または農薬である特許請求の範囲第1項記載のポリ乳酸系微小球。

3) ポリ乳酸がL-乳酸ポリマー、D、L-乳酸ポリマー、L-乳酸とグリコール酸とのコポリマーまたは、D、L-乳酸とグリコール酸とのコポリマーである特許請求の範囲第1項記載のポリ乳酸系微小球。

4) 水溶性生理活性物質とポリ乳酸を水に対して親和性のある有機溶媒と水との混合液、あるいは有機酸に均一に溶解させた溶液をこれらの混合溶媒あるいは有機酸と混ぜない貧溶媒中でo/o型、あるいはw/o型エマルジョンを形成させた後、液中乾燥により製剤化することと特徴とする水溶性生理活性物質含有ポリ乳酸系微小球の製造法。

5) 水に対して親和性のあるポリ乳酸の溶媒となる有機溶媒がアセトニトリル、ジオキサン、アセトン、エチルアルコール、メチルアルコール、テトラヒドロフラン、ジメチルホ

ルムアミド、フェノール、ジメチルスルホキシド、プロピルアルコール、グリセリン、またはエチレングリコールである特許請求の範囲第4項記載の製造法。

6) ポリ乳酸の溶媒となる有機酸が酢酸、ギ酸である特許請求の範囲第4項記載の製造法。

7) ポリ乳酸と水溶性の生理活性物質を溶解する共通溶媒、あるいは有機酸と混ざらない貧溶媒が、シリコンオイル、流動パラフィン、または綿実油、ゴマ油、ヒマシ油、コーン油等の植物油、あるいはトルエン、キシレン、ヘキサン等の有機溶媒である特許請求の範囲第4項記載の製造法。

### 3. 発明の詳細な説明

#### 〔工業上の利用分野〕

本発明は、水溶性の生理活性物質を含有する徐放型ポリ乳酸系微小球、およびその製造法に関する。

#### 〔従来の技術〕

成高分子とがある。このポリ乳酸は自然界に広く分布、存在する乳酸を出発原料とした合成高分子であり、生体内で非酵素的に加水分解され最終的には炭酸ガスと水として体外に放出されてしまう興味ある生体内分解吸収性高分子である。

従って、1970年代から種々の薬物の徐放性担体として研究されてきている（製剤工場、玄丞、Vol. 13, No. 10, P. 552, 1983年）。

それらの代表的なものとしては次のような方法が知られている。まず、疎水性の薬物、例えばエストラジオール等のホルモンをベンゼン等の有機溶媒にポリ乳酸とともに溶解させた後、溶媒を蒸発除去させることによりフィルム、粉末、ペレット等の剤形に製剤化する方法がある（特公昭50-17525）。また、ポリ乳酸と疎水性の薬物を共通の有機溶媒に溶解し、相分離剤を添加し乳化せしめた後、溶媒を留去して微小粒子を採取するいわゆる液中乾燥法が知られている（特開昭55-33414）。しかし、これらの方法はベンゼン、クロロホルム等、水と親和性のない有機溶媒

近年、新しい薬剤投与系（ドラッグデリバリーシステム、DDS）に対する関心が非常に高まっている。これは既存医薬品の薬効を最大限に高めると同時に、副作用を最小限に制御しようとする薬の安全性と有効利用を目的とした社会的な要請によるものである。

DDSの研究において、薬物の担体としてシリコンゴム、ポリエチレン、あるいはエチレン-酢ビ共重合体などの非分解性高分子がよく用いられ、皮膚や粘膜を介した経皮投与製剤でかなりよい成果が得られている。しかし、これらの高分子材料がインプラントもしくは注入された場合、薬物の放出後にそれら担体が異物として体内に残存し、将来にわたって問題が残る。これに対して、生体内分解吸収性高分子を担体として用いるならば、生体内で徐々に加水分解してゆくのに伴って、含有されている薬物が徐々に放出されるので、治療後に取り出すための外科的処置は不要となる。

生体内分解吸収性高分子には、コラーゲンで代表される天然高分子と、ポリ乳酸で代表される合

を用いていたため、疎水性の薬物しか適用できない。

一方、水溶性の薬物のポリ乳酸系高分子による徐放型製剤を得る試みとしては次のような方法が知られている。特開昭60-100516号には、W/O/W型の三層エマルジョンを形成し水中乾燥法によってポリ乳酸のマイクロカプセルを製造する方法が述べられている。この方法は製剤法が煩雑であり、薬物とポリ乳酸以外にゼラチン等の第三成分が必要であり、三層構造となっているためにサブミクロンの微小球は得られにくい上にカプセル中への薬物の取り込み率も低く、また、マイクロカプセルであるためポリ乳酸壁の一部に欠陥があるとバーストが生じ一定の徐放化が達成されにくい。さらに、特開昭57-150609号には、酸に安定なポリペプチドの徐放化について詳細に記載されている。ここでは、疎水性のポリ乳酸と親水性のポリペプチドをジオキサンと水との混合液に溶解させているものの、その溶液はポリ乳酸、あるいはポリペプチドの片方、あるい

は両者が完全溶解しないため、こん濁溶液であり、また、ポリ乳酸とポリペプチドの不均一性を解消するため、一度キャスト法にて作製したフィルムを更にホットプレスにて圧縮成形することにより、ポリペプチド含有ポリ乳酸フィルム、シート、シリンダー、あるいはそれらの粉砕物に製剤化している。また、ポリ乳酸の溶媒として氷酢酸を用いているものの、ポリ乳酸とポリペプチド混合溶液を凍結乾燥させた後、高温で押出成形して棒状に製剤化しており、本発明のごとく、 $0.01\mu\text{m} \sim 300\mu\text{m}$ の微小球の製剤化には全く言及されていない。

#### 〔発明が解決しようとする問題点〕

これら既知の発明は、上述したように一定の効果を奏するDDSシステムを提供するものであるが、水溶性の生理活性物質を疎水性のポリ乳酸に分子オーダーで均一に混ざった微小球を調整できないか、またはその調整法が煩雑である等の欠点を有するのである。

そこで本発明者らは、調整方法が比較的簡単で、

かつ安定な薬剤の徐放特性が得られる製剤法を鋭意検討したところ、水溶性の生理活性物質とポリ乳酸を水に対して親和性のある有機溶媒と水との混合溶媒、あるいは有機酸に均一に溶解させた溶液をそれらの混合溶媒、あるいは有機酸と混ざらない貧溶媒中で乳化させた後、液中乾燥法により初期のバーストを抑えられるうえに長期間の徐放性を保持させられる微小球が容易に製剤化できることを見い出し本発明を完成した。

#### 〔問題点を解決するための手段〕

本発明は、水溶性の生理活性物質を含有するポリ乳酸系微小球からなり、用いた薬物の微小球中への取り込み率が90%以上と高く、*in vitro*溶出試験(PH7.4、リン酸緩衝溶液中、37℃)において、24時間後の生理活性物質の溶出量がその含有量に対して30%以下に制御された長期間一定の放出量で徐放が可能な平均粒子径約 $0.01 \sim 300\mu\text{m}$ のポリ乳酸系微小球を提供するものである。

本発明にいう水溶性の生理活性物質とは、親水

性が強く、油水分配率の小さい薬物を好適なものとして挙げることができるが、油-水に相溶性であってもよい。かかる薬物としては、親水性の抗がん剤、抗生物質、生理活性を有するポリペプチド、解熱剤、鎮静剤、免疫賦活剤、抗炎症剤、鎮咳剤、抗てんかん剤、抗ヒスタミン剤、降圧利尿剤、糖尿病治療剤、筋弛緩剤、抗潰瘍剤、抗うつ剤、抗アレルギー剤、強心剤、不整脈治療剤、血管拡張剤、抗凝血剤、麻痺拮抗剤、止血剤、抗結核剤、ホルモン剤などが挙げられる。

抗がん剤の具体的ものとしては、アドリアマイシン、マイトマイシン、ブレオマイシン、シスプラチン、フルオロウラシル、メソトレキセート、アクリノマイシンD、クレスチン、ビンパニール、レンチナン、など、ポリペプチドとしては、インシュリン、ソマトスタチン、黄体形成ホルモン放出ホルモン(LHRH)、LHRH誘導体、プロラクチン、副腎皮質刺激ホルモン、成長ホルモン、甲状腺ホルモン放出ホルモン、メラノサイト刺激ホルモン、黄体形成ホルモン、バリプレシン、カ

ルシトニン、オキシトシン、副甲状腺ホルモン、ガストリン、テトラガストリン塩酸塩、グルカゴン、パンクレオザイミン、コレシストキニン、アンジオテンシン、ヒト胎盤ラクトゲン、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、エンケファリン、エンドルフィン、キョウトルフィン、インターフェロン、インターロイキン(I、II、III)、腫瘍壊死因子(TNF)、タフトシン、サイモポイエチン、サイモシン、サイモスチムリン、胸腺液性因子、血中胸腺因子、コロニー誘発因子、モチリン、ディノルフィン、ボムベシン、ニューロテンシン、セクレイン、ブラディキニン、ウロキナーゼ、アスパラギナーゼ、カリクレイン、サブスタンスP、神経成長因子、血液凝固因子、塩化リゾチーム、ポリミキシンB、コリスチン、グラミシジン、バシドラシン、などである。

抗生物質としては、クロルテトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、ドキシサイクリン、およびテトラサイクリンなどのテトラサイクリン類、種々のペニシリン類、セファロスポリン類および

ストレプトマイシン、ノバピオシン、ネオマイシン、スルホンアミド類、エリスロマイシン、コリスチン、リンコマイシン、ナリジキシクアシッド、アブラマイシン、サリノマイシン、ニゲリシン、カナマイシン、キトサマイシン、タイロシン、フラルタドン、バンコマイシン、チオストレプトン、ゲンタマイシン、トフラマイシン、スピラマイシン、リストセチン、ソイマイシン、さらに、エリスロマイシン、5-0-ミカミノウルタイロノリド、塩酸ジベカシンなどが挙げられる。

解熱消炎鎮痛剤としては、サルチル酸ナトリウム、スルピリン、ジクロフェナックナトリウム、インドメタシンナトリウム、フルフェナム酸ナトリウム、塩酸ベチジン、塩酸モルヒネ、オキシモルフオン、酒石酸レボルファノール、などである。

鎮静剤としては、プロクロルペラジン、トリクロペラジン、塩酸クロルプロマジン、硫酸アトロピン、臭化メチルスコポラミンなどがある。

鎮咳去たん剤としては、塩酸ノスカピン、リン酸コデイン、塩酸メチルエフェドリン、塩酸エフ

エドリン、塩酸アロクラマイド、リン酸ジヒドロコデイン、塩酸クロフェジアノール、塩酸ピコペリダミン、クロベラスチン、塩酸イソプロテレノール、塩酸プロトキロール、硫酸サルブタモール、硫酸テルブタリンなどが挙げられる。

抗うつ剤としては、硫酸フェネルジン、クロミプラミン、キシプチリン、イミプラミン、などである。

抗てんかん剤としては、エトサクシミド、アセタゾラミドナトリウム、塩酸クロルジアゼポキシド、フェニトインナトリウムなどである。

筋弛緩剤としては、メタンスルホン酸ブリジノール、臭化パンクロニウム、塩化ツボクラリンなどがある。

抗潰瘍剤としては、塩酸ヒスチジン、メトクロプロミドなどがある。

抗アレルギー剤としては、フマル酸ケトチフェン、塩酸ジフェンヒドラミン、マレイン酸クロルフェラミン、塩酸メトジラジン、塩酸トリペレナミン、塩酸クレミゾール、塩酸ジフェニルピラリ

ン、塩酸メトキシフェナミンなどが挙げられる。

降圧利尿剤としては、塩酸クロニジン、カプトプリン、塩酸ブニトロロール、ヘキサメトニウムプロミド、ペントリニウム、塩酸エカラジン、塩酸メカミルアミンなどである。

糖尿病治療剤としては、グリピザイド、グリミジンナトリウム、塩酸フェンフォルミン、メトフォルミン、塩酸ブフォルミンなどがある。

強心剤としては、塩酸エチレフリン、アミノフィリン、トランスバイオキソカンファー、テオフィノールなどである。

血管拡張剤としては、塩酸オキシフェドリン、塩酸トラゾリン、塩酸ジルチアゼム、硫酸バメタン、ヘキソベンジンなどである。

不整脈治療剤としては、塩酸プロプラノール、塩酸オキシブレロール、塩酸ブフェトロール、塩酸アルブレノロールなどがある。

抗凝血剤としては、ヘパリンナトリウム、クエン酸ナトリウムなどがある。

止血剤としては、アセトメナフトン、トロンビ

ン、トロンボプラスチン、メナジオン亜硫酸水素ナトリウム、トラネキサム酸、ε-アミノカプロン酸、アドレノクロムモノアミノグアニジンメタスルホン酸塩、カルバゾクロムスルホン酸ナトリウムなどがある。

麻薬拮抗剤としては、酒石酸レバロルファン、塩酸ナロキソン、塩酸ナロルフィンなどである。

抗結核剤としては、イソニアジド、エタンブール、パラアミノサリチル酸ナトリウムなどがある。

ホルモン剤としては、デキサメタゾン硫酸ナトリウム、リン酸ナトリウムプレドニゾロン、コハク酸プレドニゾロン、メチマゾール、ベタメタゾンリン酸ナトリウム、リン酸ヘキセストロール、酢酸ヘキセストロールなどが挙げられる。

本発明の製剤は、ポリ乳酸のホモポリマーマトリックス、あるいは、コポリマーマトリックスと、上記の生理活性物質の他に医薬製剤に通常使用される他の物質、例えば固形希釈剤、担体、結合剤、賦形剤および補助剤を含有させることができる。

例えば、トラガントゴム、アラビアゴム、トウモロコシ澱粉、ゼラチン、アルギン酸、ステアリン酸マグネシウム、アルブミン、アルミニウムモノステアレート、歯ろう、しょうとう、乳糖、メチルパラベン、プロピルパラベン、マンニット、プロピレングリコール、微晶質セルローズ、珪酸カルシウム、シリカ、ポリビニルピロリドン、セトステアリルアルコール、カカオ脂、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート、乳酸エチル、ソルビタントリオレート、エチルラウレート、ステアリン酸カルシウム、タルク、オレイン酸、リノール酸などがある。

ポリ乳酸系高分子に対する上記生理活性物質の含有量は、薬物の種類、目的とする薬理効果および徐放継続時間によって異なるが、約0.01%～約60% (V/V)、好ましくは0.1%～50% (V/V) の範囲が通している。

微小球のサイズは数ナノメートルから数百ミクロンまでの範囲が適当であるが、静脈注射を可能にし、リンパ指向性、筋中投与、あるいは肝臓、

肺、脾臓などの網内皮系組織への集積等、目的に応じて調整でき、また使用できる。また、サイズの分布に関しては狭ければ狭いほど好ましいが、ふるい分け程度の分布でも問題はない。

本発明で使用されるポリ乳酸は、ポリ-L-乳酸、ポリ-D-乳酸あるいは乳酸-グリコール酸共重合体など、加水分解速度や薬物との相溶性などの目的に応じて用いることができ、またそれらの分子量は特に限定されるものではないが、重量平均分子量3000以上50万までの範囲が好ましいが、より好ましい分子量は3,000～20,000程度のオリゴマー領域である。さらに、ポリ乳酸と同じ生体内分解吸収性ポリマーであるポリ-β-ヒドロキシブチレート、3-ヒドロキシブチレートと4-ヒドロキシブチレートとの共重合体、ポリデブシペプチド、ポリジオキサノン、あるいは乳酸とラクトンとの共重合体、乳酸とポリエチレングリコールとの共重合体等も使用できる。

本発明で使用される水と親和性のある有機溶媒としては、水と任意の割合でよく混ざり、かつポ

リ乳酸の有機溶媒と混ざらないものが好ましい。例えば、アセトニトリル、ジオキサノン、アセトン、エチルアルコール、メチルアルコール、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、フェノール、ジメチルスルホキシド、プロピルアルコール、グリセリン、またはエチレングリコール等が好ましいが、これらの有機溶媒の中でもとくにアセトニトリルとジオキサノンが好ましい。また、ポリ乳酸の溶媒となる有機酸としては、酢酸、ギ酸、グリコール酸、あるいは乳酸が好ましいが、これらの中でも特に酢酸が好ましい。さらに、酢酸の誘導体、例えば酢酸メチル、酢酸エチル、トリクロロ酢酸、トリフルオロ酢酸、あるいは酢酸ナトリウム、酢酸カルシウム、酢酸カリウム、その他の酢酸塩等も使用できる。酢酸の場合は氷酢酸が好ましいが、例えば分子量の高いタンパク質の薬物で氷酢酸に溶解しにくい場合は、80～90%の酢酸を使用するのが良い。一方、アセトニトリル、あるいは、ジオキサノンの場合、それら有機溶媒100%ではポリペプチド系の薬物の溶解性が劣る

ため、有機溶媒と水との混合割合は70:30～99.9:0.1 (重量比) の範囲、好ましくは80:20～95:5 の範囲である。

有機溶媒としては、水溶性の生理活性物質とポリ乳酸の共通溶媒と実質的に相溶性がなく、製剤後の除去が容易なものが好ましく、例えば、シリコンオイル、流動パラフィン、あるいは、綿実油、ゴマ油、ヒマシ油、コーン油、等の植物油や油脂、または、トルエン、キシレン、ヘキサン、等の有機溶媒が使用できる。

本発明の水溶性生理活性物質含有ポリ乳酸系微小球の製剤法としては、有機溶媒/水混合系の場合はO/O型エマルジョン液中乾燥法と酢酸系の場合はW/O型エマルジョン液中乾燥法の基本的には二つの方法がある。両方法とも乳化剤を使用するのが製剤化しやすいため、その乳化剤としては、一般に安定なO/O型とW/O型エマルジョンを形成するものであればどのようなものでも限定されるものではないが、例えばHLB3～6.5の非イオン性界面活性剤が好適に用いられる。具

体例としては、ソルビタンモノステアレート、ソルビタンジステアレート、ソルビタンモノオレート、ソルビタンセスキオレート、ソルビタントリオレート、レシチン等がある。これら疎水性乳化剤の添加量は、通常疎水性媒体の100重量部に對し0.1～5重量部、好ましくは1～3重量部である。乳化作は、プロペラ型攪拌法、コロイドミル法、ホモジナイザー法、超音波照射法、マイクロフルイダイザー等の公知の分散法が適用できるが、数ミクロンサイズの微小球を得るには超音波照射法が好ましく、また数10nm～数100nmの微小球を得る場合にはマイクロフルイダイザーが適している。

かくして超音波照射法等により得られたO/O型、あるいはW/O型エマルジョンからのポリマーと薬物との共通溶媒を系外に留去することにより生理活性物質含有ポリ乳酸系微小球が生成するが、これを貧溶媒中から濾過または遠心操作により分離した後、微小球表面に付着残存する貧溶媒除去のためアセトンやヘキサン等の有機溶媒にて

させた溶液とをマグネチックスターラーによる攪拌下で混合させた。この溶液を界面活性剤としてスパン80を2wt%含有した100mlの綿実油にプロペラ型攪拌機による攪拌下で滴下し、40～60℃の加温下でアセトニトリルと水の混合溶媒を蒸発させた後、遠心分離機により遠沈させ、n-ヘキサンにて洗浄することにより平均粒径20～30μmのアドリアマイシン含有ポリ乳酸微小球を作製した。in vitro溶出結果を表1に示す。in vitro溶出実験は、所定量の微小球をPH7.4のリン酸緩衝溶液中で37℃の恒温槽にて行い、薬剤濃度を蛍光測定により評価した。

比較例1.

重量平均分子量約3,600のポリ-L-乳酸1gを10mlの塩化メチレンに溶解させた溶液中にアドリアマイシン原末50mgを添加しマグネチックスターラーにて攪拌下で分散混合させた。この溶液を実施例1と同じ方法でアドリアマイシン含有ポリ乳酸微小球を作製した。in vitro溶出結果を表1に示す。

洗浄し、乾燥手段を施すことにより本発明の微小球を製造することができる。

本発明により得られる水溶性生理活性物質含有ポリ乳酸系微小球は注射剤、経口投与剤、経皮投与剤、坐剤、経鼻投与剤、口腔投与剤あるいは眼内投与剤等に適用される。

#### 〔発明の効果〕

本発明により得られる水溶性生理活性物質含有ポリ乳酸系微小球は、疎水性高分子であるポリ乳酸系高分子に水溶性生理活性物質の活性をそこなわず安定に均一包含させることにより、初期バーストを制御するとともに1週間以上の長期間にわたる徐放性を付与できるのみでなく、微小球中への薬物の取り込み率も90%以上に向上させることが可能となった。

以下に実施例を挙げて本発明を詳細に説明する。

実施例1.

重量平均分子量約3,600のポリ-L-乳酸1gを9mlのアセトニトリルに溶解させた溶液と、アドリアマイシン原末50mgを1mlの蒸留水に溶解

#### 実施例2.

重量平均分子量約7,500のポリ-L-乳酸を用いた他は実施例1と全く同じ条件下でアドリアマイシン含有ポリ乳酸微小球を作製した。in vitro溶出結果を表1に示す。

#### 実施例3.

重量平均分子量約7,000のL-乳酸-グリコール酸共重合体（共重合組成比7:3）を用いた他は実施例1と全く同じ条件下でアドリアマイシン含有ポリ乳酸微小球を作製した。in vitro溶出結果を表1に示す。

#### 実施例4.

重量平均分子量約3,600のポリ-L-乳酸1gを9mlのアセトニトリルに溶解させた溶液と、抗生物質であるトフラマイシン200mgを1mlの蒸留水に溶解させた溶液をマグネチックスターラーによる攪拌下で混合させた。この溶液を実施例1と同じ方法でトフラマイシン含有ポリ乳酸微小球を作製した。in vitro溶出結果を表2に示す。in vitro溶出実験は実施例1と同様で薬剤濃度の測

定は枯草菌を用いたバイオアッセイ法にて行った。  
比較例2。

重量平均分子量約3,600のポリ-L-乳酸1gを10mlの塩化メチレンに溶解させた溶液中にトフラマイシン200mgを添加し、マグネチックスターラーにて攪拌下で分散混合させた。この溶液を実施例1と同じ方法でトフラマイシン含有ポリ乳酸微小球を作製した。in vitro溶出結果を表2に示す。

#### 実施例5。

重量平均分子量約3,600のポリ-L-乳酸1gを8mlのアセトニトリルに溶解させた溶液と、シスプラチン2mgを2mlの蒸留水に溶解させた溶液とをマグネチックスターラーによる攪拌下で混合させた。この溶液を実施例1と同じ方法でシスプラチン含有ポリ乳酸微小球を作製した。微小球中への薬物の取り込み率はほぼ100%であった。in vitro溶出結果を表1に示す。in vitro溶出実験は実施例2と同様で溶出量の定量は原子吸光法により行った。

P-C1-Pho<sup>1</sup>、D-Trp<sup>1</sup>、D-Arg<sup>1</sup>、D-Ala<sup>1</sup>]-LH-RH) 200mgを2mlの蒸留水に溶解させた溶液とをマグネチックスターラーによる攪拌下で混合させた。この混合液は白濁せず混合前と同様透明でポリマー、薬剤とも完全に溶解していた。この溶液を界面活性剤としてレシチンを1wt%含有した200mlのゴマ油にプロベラ型攪拌機による攪拌下で滴下し、さらに超音波ホモジサイザーによる乳化を行い、40~60℃の加温下で酢酸と水を蒸発させた後、遠心分離機により遠沈させ、n-ヘキサンにて洗浄、乾燥させることにより平均粒径0.5~5μmのLHRH含有ポリ乳酸系微小球を作製した。

この微小球を精製ゴマ油に分散させ体重約350gの雄ラットの皮下に注射(LHRH投与量として12mg/kg)し、LHRHの生体に及ぼす効果(下垂体-性腺系の感受性にもとづく内生殖器の萎縮)を長期間にわたって観察したところ、約60日間にわたってその効果が持続した。

#### 実施例7。

#### 比較例3。

シスプラチン2mgを20%ゼラチン水溶液2mgに溶解し重量平均分子量約3,600のポリ-L-乳酸の20%濃度の塩化メチレン溶液1.0mlに加え、超音波乳化させることによりW/O型エマルジョンを調製した後、急冷することによりゼラチン層をゲル化させた。これを、別に氷冷しておいた100mgの1%ポリビニルアルコール水溶液中に注入し、ホモジナイザーにて分散させW/O/W型エマルジョンを調製した後、塩化メチレンを蒸発、乾燥させることによりシスプラチン含有ゼラチンのポリ乳酸マイクロカプセルを作製した。この場合のマイクロカプセル中へのシスプラチンの取り込み率は約29%であった。in vitro溶出結果を表2に示す。

#### 実施例6。

重量平均分子量約12,000のL-乳酸-グリコール酸共重合体(共重合体組成比80:20)2gを氷酢酸20mlに溶解させた溶液と、黄体形成ホルモン放出ホルモンLHRH(N-Ac[D-

重量平均分子量16,000のポリ-D,L-乳酸2gを氷酢酸20mgに溶解させた溶液と、ブタのインシュリン(sigma製原末)100mgを0.1NHCl2mlに溶解させた溶液とをマグネチックスターラーによる攪拌下で混合させた。この混合液も白濁せず透明性を呈していた。この溶液を実施例6と同様の方法でインシュリン含有ポリ乳酸微小球を調整した。in vitro溶出試験の結果を表3に示す。インシュリン濃度はグルコースオキシダーゼ法(酵素法)により測定した。

#### 比較例4。

重量平均分子量16,000のポリ-D,L-乳酸2gをクロロホルムに溶解させた溶液中にインシュリン100mgを添加し、マグネチックスターラーにて攪拌下で分散混合させた。この溶液を実施例7と同じ方法でインシュリン含有ポリ乳酸系微小球を作製した。in vitro溶出試験の結果を表3に示す。

#### 実施例8。

重量平均分子量約7,600の乳酸-グリコール酸



共重合体（共重合体組成比80：20）2gとカルシトニン 10,000 単位とを98%酢酸20mlにマグネチックスターラーによる攪拌下で溶解させた後、実施例6と同様の方法でカルシトニン含有ポリ乳酸系微小球を調整した。カルシトニン活性は血清カルシウムの低下作用による測定結果では、その活性の低下は認められなかった。この場合のポリ乳酸系微小球へのカルシトニンの取り込み率は約95%であった。in vitro溶出結果を表3に示す。in vitro実験は実施例1と同様で、溶出量の定量はHPLCにて行った。

#### 比較例5.

カルシトニン 10,000 単位を比較例3と同様の方法によりW/O/W型エマルジョンを調整し、カルシトニン含有ゼラチンのポリ乳酸マイクロカプセルを作製した。この場合のポリ乳酸マイクロカプセルへのカルシトニンの取り込み率は約53%であった。in vitro溶出結果を表3に示す。

#### 実施例9.

重量平均分子量約 5,300の乳酸-グリコール酸

共重合体（共重合体組成比75：25）1gとマウスインターフェロン $\alpha$ とインターフェロン $\gamma$   $1 \times 10^6$  単位を92%酢酸10mlに溶解させた溶液を界面活性剤としてレシチン1wt%含有ゴマ油100ml中に滴下した後、

macrofluidics coporation 製マイクロフルイダイザー（M-110H）にて乳化させた後、液中乾燥法により平均粒径100nm～500nmのインターフェロン含有ポリ乳酸系微小球を作製した。この場合の微小球へのインターフェロンの取り込み率は約98%であった。

#### 実施例10.

BALB/Cマウス1匹当たり  $2 \times 10^6$  個のBALB/Cマウス由来のMeth-A繊維肉腫細胞をマウス腹腔内移植した。移植後、3日目から2日おきに、実施例9で作製したマウスインターフェロン $\alpha$ 含有ポリ乳酸系微小球をマウス腹腔内に投与した。移植10日後のマウス腹腔内のMeth-Aの細胞数およびマウスの延命効果を検討した。得られた結果を表4に示す。

#### 比較例6.

マウスインターフェロン $\alpha$   $1 \times 10^6$  単位を比較例3と同じ方法によりw/o/w型エマルジョンを調整し、インターフェロン $\alpha$ 含有ゼラチンのポリ乳酸マイクロカプセルを作製した。この場合のマイクロカプセルへのインターフェロンの取り込み率は約47%であった。in vivo 実験を実施例10と同様に行い、その結果を表4に示す。

#### 実施例11.

重量平均分子量約 3,600のポリ-L-乳酸 500mgとヒト癌壊死因子（TNF）  $7.8 \times 10^6$  単位とを88%酢酸10mlに溶解させた溶液を実施例9と同様の方法によりTNF含有ポリ乳酸微小球を調整した。in vitroの溶出実験を実施例1と同じ方法にて行い定量を酵素抗体法にて行ったところ、活性が30日間持続した。

#### 実施例12.

重量平均分子量約 3,600のポリ-L-乳酸 500mgとインターロイキンII（IL-II）  $1 \times 10^6$  単位とを88%酢酸10mlに溶解させた溶液を実

施例9と同様の方法によりインターロイキンII含有ポリ乳酸微小球を調整した。

得られた微小球をマウスの血中に投与しIL-IIの血中濃度をIL-II依存性の cell lineであるCTL-2を用いて測定したところ、96時間にわたって  $1 \times 10^3$  単位/ml以上の高濃度が検出された。

#### 実施例13.

重量平均分子量約 3,600のポリ-L-乳酸 500mgとラットの表皮成長因子（EGF）0.5mgとを90%酢酸20mlに溶解させた溶液を実施例6と同様の方法によりEGF含有ポリ乳酸微小球を調整した。

得られた微小球を頸動脈挿管処理のラットに皮下注射し、血漿中のEGFを放射線免疫分析によって測定したところ、血漿中のEGFの増大が2日目からみとめられ約30日間持続した。

#### 実施例14.

重量平均分子量約 3,600のポリ-L-乳酸 500mgとウロキナーゼ60万単位とを氷酢酸に溶解さ

せた溶液を実施例6と同様な方法によりウロキナーゼ含有ポリ乳酸微小球を調製した。in vitroの溶出試験を行いフィブリンプレート法により酵素活性を測定したところ約4週間にわたって1,000単位以上のウロキナーゼが検出された。

#### 実施例15.

重量平均分子量約5,600のポリ-L-乳酸500mgとウシのプロラクチン100mgを氷酢酸に溶解させた溶液を実施例6と同様な方法によりプロラクチン含有ポリ乳酸微小球を調製した。得られた微小球をラットの皮下に注射し血漿中のプロラクチンを放射線免疫分析によって測定したところ、約60日間にわたって高濃度のプロラクチンが検出された。

#### 実施例16.

重量平均分子量約4,700のポリ-L-乳酸1gとパニマイシン(硫酸ジベカシン)100mgとをアセトニトリルと水との混合溶媒(9:1)20mlに溶解させた溶液を実施例1と同様な方法によりパニマイシン含有ポリ乳酸微小球を調製した。

得られた微小球はのin vitro溶出試験方法で抗菌性の持続を枯草菌によるバイオアッセイにより測定したところ約30日間にわたって10 $\mu$ g/ml以上の高濃度の持続が確認された。

[以下余白]

表1

溶出時間 (日)	アドリアマイシン溶出量累積 (%)			
	実施例1	実施例2	実施例3	比較例1
1	24.5	9.3	12.2	33.6
3	28.1	11.7	24.3	91.3
4	37.3	20.2	31.6	100.0
14	56.6	29.3	42.3	
21	78.2	41.5	55.1	
28	89.4	53.8	67.3	
42	100.0	69.1	81.7	
56		84.6	100.0	
68		100.0		

表2

溶出時間 (日)	トフラマイシン溶出量累積 (%)		シスプラチン溶出量累積 (%)	
	実施例4	比較例2	実施例5	比較例3
1	29.5	93.5	21.7	35.4
3	42.1	100.0	35.4	86.5
7	65.7		53.2	100.0
14	83.5		71.7	
28	91.4		95.3	
42	100.0		100.0	

表3

溶出時間 (日)	インシュリン溶出量累積 (%)		カルヒトニン溶出量累積 (%)	
	実施例7	比較例4	実施例8	比較例5
1	21.2	71.3	13.6	51.3
4	48.3	100.0	23.5	92.4
8	63.5		49.7	100.0
12	74.7		66.9	
16	87.9		91.2	
20	96.3		98.5	

表4

	Meth-A細胞数 ( $\times 10^4$ )	生存日数 (日)
実施例10	405 $\pm$ 263	60
比較例6	952 $\pm$ 287	14

特許出願人 株式会社バイオマテリアル・ユニバース